



TITLE:

葉酸投与による腎の肥大について

AUTHOR(S):

本永, 逸哉

CITATION:

本永, 逸哉. 葉酸投与による腎の肥大について. 泌尿器科紀要 1977, 23(1): 1-8

ISSUE DATE:

1977-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/122050>

RIGHT:

葉酸投与による腎の肥大について

山口大学医学部泌尿器科学教室（主任：酒徳治三郎教授）

本 永 逸 哉

HYPERPLASIA OF THE RAT KIDNEY AFTER
FOLIC ACID ADMINISTRATION

Itsuya MOTONAGA

*From the Department of Urology, Yamaguchi University School of Medicine, Ube, Japan**(Director : Prof. J. Sakatoku, M. D.)*

Hyperplasia of rat kidneys induced by a single intraperitoneal injection of folic acid (250 mg per kg of body weight) was investigated by measuring the amount of Feulgen-DNA in renal cell nuclei and the mitotic rate.

1) Wet weight of the rat kidneys increased rapidly after folic acid injection. At 6 hours, there was a mean increase of 25%, rising to a maximum of 80% at 12 hours and declining to 16% at 4 days.

2) When the kidney was halved along the long axis a strongly yellow stained band corresponding closely to the inner stripe of the outer medulla was seen across the exposed surface from 2 to 18 hours after folic acid injection. The lumens of the distal tubules were filled with folate crystals only 30 min. after injection and were almost free of folate deposits at 48 hours. At 48 hours after injection, the proximal and distal tubules were dilated but no collapsed tubules could be detected.

3) At 2 days after folate injection, the maximum increase of Feulgen-DNA content in the renal cell nuclei was observed, with a return to normal value within 3 days.

4) It was shown that the mitotic rate reached a maximum at 2~4 days after folate injection, declining nearly to the control value at 6 days.

5) The changing pattern of Feulgen-DNA content in folate stimulated renal cell nuclei correlated well with that of mitotic activity.

緒 言

代償性腎肥大に関する研究は、19世紀後半に始まり、幾多の報告がなされている。最近では腎移植術の普及にともなって、生体供腎者における残腎の運命という点においても興味もたれている。

本教室においても、小金丸¹⁾は家兎の代償性肥大腎における腎内血管の形態学的検討を microangiography を応用しておこない、代償性腎肥大の原動力になるものの一つは、残腎血流量増加による尿管管の work load と推定している。また大北²⁾はラットの偏腎摘除後の残腎における DNA 合成の発現の時期およびその程度を顕微分光測光法を用いて検討し、術後5日目にその値が最高に達すると報告している。

著者は薬剤による腎肥大をとり上げた。ラットに葉酸 folic acid を投与し、投与後の経時的な腎の重量の変化、光顕像、細胞の DNA 量および細胞分裂像の出現頻度を観察し、腎肥大の機構について検討を加えるとともに文献的考察を加えた。

実験材料、方法および成績

実験動物には 80~200 g の Wistar 系 雄性 ラット を使用し、葉酸 folic acid (片山化学 $C_{19}H_{19}N_7O_6$) を 0.3 M $NaHCO_3$ に溶解して 50 mg/ml とし、ラットの腹腔内に 250 mg/kg を注射した。対照には同日齢の無処置のラットを用いた。

I. 腎重量の変化

1) 実験材料および方法

まず葉酸投与後の腎の重量の変化を測定した。

80~200 g の Wistar 系雄性ラットの腹腔内に葉酸 250 mg/kg を注射し、6, 12, 18 時間、1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 日後に体重測定をおこなった後、エーテル麻酔下にて両側腎摘除術を施行した。摘出腎の重量は 0.01 g まで測定した。また摘出腎の重量の変動は体重比として観察した。

2) 実験成績

実験成績は Table 1 と Fig. 1 に示した。対照群の腎重量/体重 $\times 10^4$ は 5.20 (± 0.99) であった。葉酸投与後 6 時間ですでにその値は 6.50 (± 0.08) と 25% 増加し、12 時間目では 9.35 (± 0.21) と 80% 増加のピークを示した。1 日目 8.69 (± 0.44) 67%, 2 日目 7.66 (± 1.99) 47%, 3 日目 7.95 (± 1.71) 53%, 4 日目 6.05 (± 1.42) 16% と漸次減少し、5 日目では 5.71 (± 1.68) とほぼ対照群の値と同様になった。

Table 1. 腎重量の変化

葉酸投与後日時数	腎の数	腎重量/体重 $\times 10^4$ 平均値 \pm S.D.
対 照	40	5.20 \pm 0.99
6 時 間	2	6.50 \pm 0.08
12 時 間	2	9.35 \pm 0.21
18 時 間	4	8.34 \pm 0.61
1 日	6	8.69 \pm 0.44
2 日	8	7.66 \pm 1.99
3 日	8	7.95 \pm 1.71
4 日	10	6.05 \pm 1.42
5 日	10	5.71 \pm 1.68
6 日	12	6.17 \pm 0.50
7 日	4	5.62 \pm 0.47
8 日	8	4.82 \pm 0.15
9 日	4	4.95 \pm 0.43
10 日	6	5.64 \pm 1.16

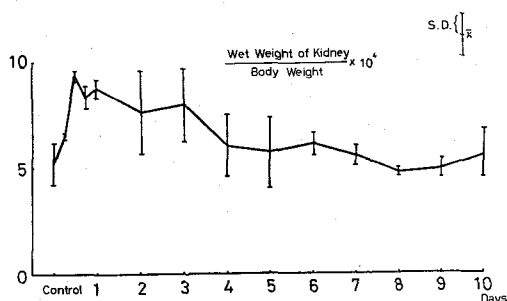


Fig. 1. 葉酸投与後の腎重量の変化

3) 小括

Threlfallら^{3,4)}はラットに葉酸を投与すると腎の wet weight は 1 日目 43%, 2 日目 66%, 4 日目 73%, 7 日目 33% の増加を示したと報告しており、著者の結果と若干異なっている。

葉酸投与後数時間で腎重量が増加することは、次の組織学的な検討で示すように遠位尿管管腔における葉酸の結晶による閉塞のため、尿管管腔内における水分の蓄積が起るためと思われる。なお、Schmidtら⁵⁾はラットに葉酸を投与すると 10 分ですでに尿量が急激に減少し、急性腎不全の状態となり、60 時間で利尿期になると報告している。

II. 組織学的検討

葉酸投与後の初期の腎における変化を観察するため、組織学的な検討をおこなった。

1) 実験材料および方法

90~150 g の Wistar 系雄性ラット 22 匹を使用した。葉酸投与後 30 分、1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48 時間目に両側腎摘除術を施行し、型のごとくカルノア液にて固定、パラフィン包埋後切片標本をつくり、H. E. 染色を施して検鏡した。

2) 実験成績

腎の断面における肉眼的観察では、投与後 2 時間ですでに outer medullary zone に沿って黄色の着色帯が認められ、その濃度および範囲は 6~12 時間で最も増強し (Fig. 2)、24 時間目には消失していた。

光顕所見は、投与後 30 分ですでに遠位尿管管腔内の所どころに黄褐色の無定形結晶が認められ、これは 8~10 時間目に最も増強し (Fig. 3)、以後減少して 48 時間後にはわずかに認められる程度であった。これにともない、近位および遠位尿管管の拡張が認められたが、尿管上皮細胞の変性および壊死はほとんど認められなかった。

3) 小括

Taylor ら⁶⁾および Schmidt ら⁵⁾は葉酸投与後の組織像を凍結切片で観察し、著者と同様の所見を報告している。また Taylor ら⁶⁾は腎から排泄される葉酸を分光測光法で定量した結果、葉酸投与後 30 分以内に投与量の約 8% が腎に認められ、8 時間目には 20% 以上となってピークを示し、その後減少して 24 時間目には 6%, 48 時間目には約 1% に減少したと報告している。

著者は凍結切片ではなく、H. E. 染色で観察した。染色の際、水洗の時間を非常に短くすると葉酸の結晶の流出は軽度で、じゅうぶん観察できた。また著者は、葉酸の腎における排泄について定量的な測定はおこなっていないが、光顕的観察では Taylor ら⁶⁾と同様な

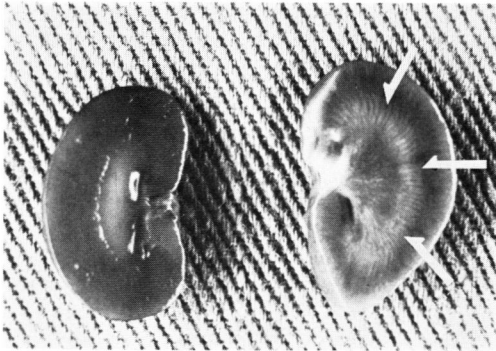


Fig. 2. 葉酸投与後8時間目の腎の剖面(右)(左は対照腎). 腎の outer medulla に沿って黄褐色の帯が認められる(矢印).

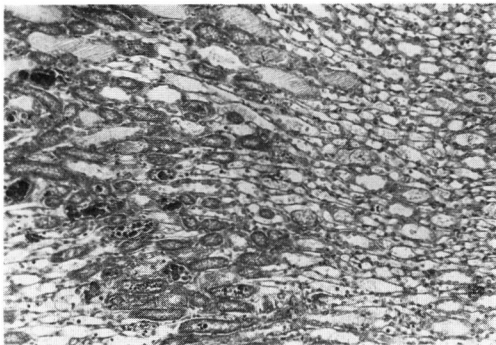


Fig. 3. 葉酸投与後8時間目の腎の組織像(H・E 染色400倍). 尿細管腔に葉酸の結晶が沈着し、尿細管腔の拡張が認められる.

所見が認められた.

このように、ラットに葉酸を投与すると急速に遠位尿細管における閉塞が起こり、急性腎不全を誘発する. Schmidt ら⁵⁾は葉酸投与後10分で BUN はすでに軽度上昇し、60時間目に最高となり、14日目には正常に回復したと報告している.

急性腎不全の多くは nephrotoxic chemical, 例えば昇汞^{7,8)} およびグリセリン^{9,10,11)} の非経口的投与, および腎動脈の結紮¹²⁾ により誘発される. これらの場合すべてに尿細管上皮細胞の変性および壊死をともなう. しかし葉酸投与後では、尿細管管腔が結晶沈着によって閉塞されるのみで尿細管上皮細胞の変性および壊死はほとんど認められず、他の急性腎不全とは趣きを異にしている.

Ⅲ. 腎細胞の Feulgen-DNA 量の測定

上述のごとく、葉酸をラットの腹腔内に投与すると、遠位尿細管において急速に葉酸の結晶による閉塞が起こり、腎重量の増加がみられる. このような腎重量の増加は、腎における細胞分裂活性の亢進による腎

肥大が関与することも考えられる. この可能性を検討する目的で、腎の細胞の DNA 量を顕微分光測光法を用いて測定した.

1) 実験材料および方法

80~150 g の Wistar 系雄性ラットを使用し、葉酸投与後8時間、1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10 日目に各2匹ずつ両側の腎摘除術を施行した. 対照には同日齢の無処置のラットを使用した. 両群とも腎摘後、直ちに皮質部と髄質部より小組織片を切り出し、No. 1 カバーガラス上に置き、これに低分子デキストラン水溶液1滴を加えて2本の針で組織を砕いた後、塗抹した. このようにするとガラス上に均等に分布した腎細胞の塗抹標本が得られる. この際、カバーガラス上の半分には実験腎の、他の半分には対照腎の塗抹をおこなった. これは両群の腎細胞の染色を全く同一条件下でおこなうためである. これらの塗抹標本は自然乾燥後カルノア液で固定し、Table 2 に示すような方法に従って Feulgen 反応を施した. 加水分解は5規定塩酸・25°C 60分間¹³⁾おこない、Schiff 試薬には90分反応させた. Feulgen-DNA 量の測定はオリンパス光学 KK 製(MSP-A IV) 顕微分光光度計を用いて直良法¹⁴⁾に準じておこなった. 用いた波長は 560 mμ である. スポットの大きさは 2.5 μ とし、光束を核の中心部にあて、 $Q=r^2 E$ (r 核の半径, E 吸収率) より DNA 量 Q を算出した. 対照群、実験群それぞれ60個の細胞について測定した.

Table 2. Smear-Feulgen reaction

◦ No. 1 カバーガラスに Smear	
◦ Air dry	Over 1 hour
◦ Carnoy 固定	40 min.
◦ 脱水 (Alcohol)	10 min.
◦ 水洗 (D. W.)	5 min.
◦ 加水分解 (5 N: HCl)	40 min.
◦ 水洗 (流水中)	5 min.
◦ 水洗 (D. W.)	5 min.
◦ Schiff 試薬	90 min.
◦ 亜硫酸溶液	2 min. (3回)
◦ 水洗 (D. W.)	5 min.
◦ 脱水 90% Alcohol	3 min.
◦ 100% Alcohol	5 min.
◦ 〃 Alcohol	5 min.
◦ 透徹 Carbol xylol	5 min.
◦ Xylol	5 min.
◦ Xylol	10 min.

2) 実験成績

実験成績は Table 3, Fig. 4 に示されている。皮質における Feulgen-DNA 量は葉酸投与後 1 日目には対照群にくらべ12%増加し、2 日目には24%増となり

増加のピークを示し、3 日目には約 8 %の増加を示し、ほぼ対照値に近づいている。また髄質においては、投与後 2 日目には27%の増加を認めている。

Feulgen-DNA 量の変化を経時的に観察した結果は

Table 3. Feulgen-DNA 量の変化

葉酸投与後日時数	皮		質	投与群/対照群	髄		質	投与群/対照群
	葉酸投与群 (60コ総計)	対 照 群 (60コ総計)			葉酸投与群 (60コ総計)	対 照 群 (60コ総計)		
8 時 間	805.41	762.71		1.055	971.55	940.53		1.032
1 日	1182.50	1051.63		1.124	1286.67	1204.97		1.067
2 日	848.61	683.91		1.240	768.13	601.45		1.277
3 日	559.09	514.60		1.086	521.02	478.52		1.088
4 日	942.64	926.68		1.017	900.78	943.47		0.954
5 日	1142.02	1167.61		0.978	1329.55	1314.44		1.011
6 日	1310.52	1305.19		1.004	1175.37	1164.52		1.009
8 日	745.54	769.30		0.969	851.87	832.06		1.023
10 日	904.72	862.41		1.049	1005.34	1025.75		0.980

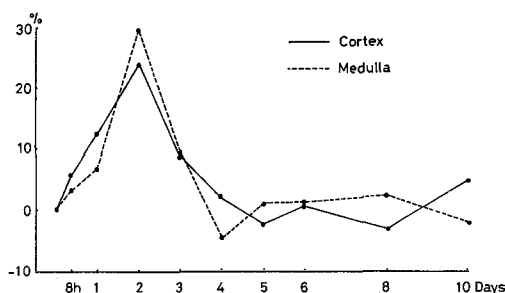


Fig. 4. 葉酸投与後の腎細胞における Feulgen-DNA 量の変化

ヒストグラムとして Fig. 5 に示されている。皮質では葉酸投与後 1 日目には対照群との間にはほとんど差は認められなかったが、2 日目には 2C 以上を示す細胞、すなわち DNA 合成期の細胞の数が増加し、3 日目以後には対照群とほぼ同様になった。また投与後 10 日目に DNA 合成期の細胞がわずかに増加する傾向がみられた。髄質では投与後 1 日目に 3 C を示す細胞が増加し、3 日目以後は対照群とほぼ同様になった。すなわち皮質、髄質ともに葉酸投与後 2 日目に DNA 合成期の細胞が最も多く認められた。

3) 小括

Threlfall ら³⁾ は DNA 量の測定を Schmidt and Thannhauser¹⁵⁾ および Schneider¹⁶⁾ の変法でおこない、葉酸投与後 2 日目に約40%増加し、4 日目に約60%増加し、増加のピークを示したと報告している。また Byrnes ら¹⁷⁾ は ³H-thymidine の DNA への取り込みを autoradiography を用いて観察し、葉酸投与

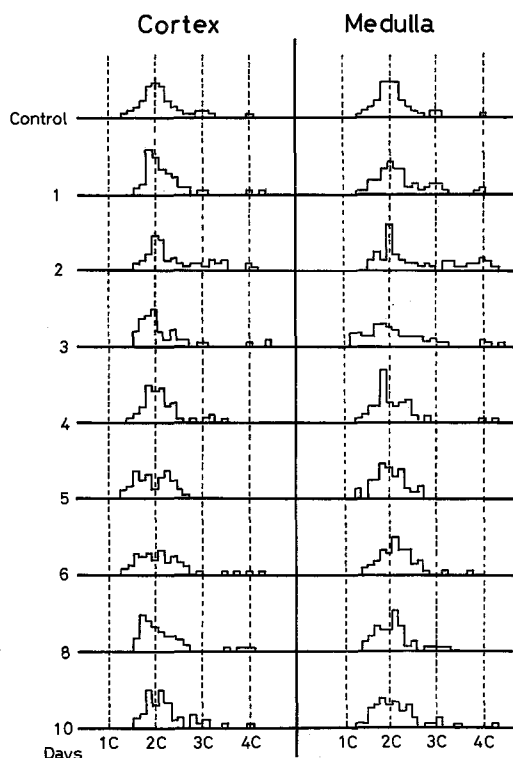


Fig. 5. 葉酸投与後の腎細胞における Feulgen-DNA 量の変化

後36時間でピークに達し、正常値の 13.5 倍となり、3 日目にはほぼ正常値にかえったと報告している。著者は顕微分光測光法により Feulgen-DNA 量を測定し、Byrnes ら¹⁷⁾ とほぼ同様の結果を得た。

IV. 腎における細胞分裂像の出現頻度

実験Ⅲでラットに葉酸を非経口的に投与すると腎細胞内の DNA 量が一過性に増加することが観察された。ここでは腎細胞の分裂活性をより明確にするため、皮質および髄質の腎尿管上皮細胞における細胞分裂像の出現頻度を観察した。

1) 実験材料および方法

100~200 g の Wistar 系雄性 ラット19匹を用い、葉酸投与後 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10日目に両側腎を摘出した。対照には無処置のラットを使用した。摘出腎はカルノア液固定・包埋後切片標本をつくり、H. E. 染色を施した。分裂像の算定にあたっては、皮質と髄質それぞれについて尿管上皮細胞 6.7×10^4 個以上を観察した。細胞分裂像の出現頻度は全細胞数に対する分裂細胞の数の比としてあらわした。なお colchicine の投与はおこなわなかった。

2) 実験成績

実験成績は Table 4, Fig. 6 に示されている。すなわち皮質における細胞分裂像の出現頻度は葉酸投与後 2 日目に増加を認め、3 日目にピークを示し、以後漸

次減少し、6 日目にはほぼ対照群の値と同様になった。髄質においては葉酸投与後 2 日目に増加を示し、3 ないし 4 日目にピークを示し、以後漸次減少して 6 日目にはほぼ対照値に近づいた。

3) 小括

細胞分裂の増加を調べる方法として細胞分裂像を組織学的に観察する方法と autoradiographic technique を使用する方法とがある。Threlfall ら^{3,4)} は ^3H -thymidine-labeled cell の count を autoradiographic technique で観察し、皮質では葉酸投与後 2 日目に labeling index がピークに達し、outer medulla では投与後 1 日目に、inner medulla では投与後 4 日目にピークに達したと報告している。Byrnes ら¹⁷⁾ は同様の方法で葉酸投与後 36 時間目に皮質、髄質ともに labeling index がピークを示したと報告している。著者は組織学的に細胞分裂像を観察し、葉酸投与後 2 日~4 日で皮質、髄質ともに細胞分裂像の著明な増加を認めた。これは実験Ⅲにおける DNA 合成期の細胞が増加する時期とよく相関している。

Table 4. 葉酸投与後の腎の細胞分裂像の出現頻度

葉酸投与後日数	皮 質			髄 質		
	mitosis 数	全細胞数	mitotic rate	mitosis 数	全細胞数	mitotic rate
対 照 群	14	21.38×10^4	6.54×10^{-5}	4	13.46×10^4	2.97×10^{-5}
	5	24.50×10^4	2.04×10^{-5}	2	18.89×10^4	1.06×10^{-5}
	6	30.35×10^4	1.98×10^{-5}	2	17.52×10^4	1.14×10^{-5}
1 日	24	26.51×10^4	9.05×10^{-5}	2	19.19×10^4	1.04×10^{-5}
	28	26.17×10^4	10.69×10^{-5}	6	21.61×10^4	2.77×10^{-5}
2 日	57	19.63×10^4	29.03×10^{-5}	31	16.58×10^4	18.69×10^{-5}
	62	19.44×10^4	31.89×10^{-5}	15	14.89×10^4	10.07×10^{-5}
3 日	36	8.53×10^4	42.20×10^{-5}	45	16.46×10^4	27.33×10^{-5}
	41	12.36×10^4	33.17×10^{-5}	28	16.60×10^4	16.86×10^{-5}
4 日	16	15.56×10^4	10.28×10^{-5}	35	12.98×10^4	26.96×10^{-5}
	27	16.72×10^4	16.14×10^{-5}	21	11.89×10^4	17.66×10^{-5}
5 日	19	13.88×10^4	13.68×10^{-5}	15	17.14×10^4	8.75×10^{-5}
	30	16.88×10^4	17.77×10^{-5}	23	15.69×10^4	14.65×10^{-5}
6 日	4	11.80×10^4	3.38×10^{-5}	2	6.75×10^4	2.96×10^{-5}
	6	13.51×10^4	4.44×10^{-5}	9	12.06×10^4	7.46×10^{-5}
8 日	19	15.96×10^4	11.90×10^{-5}	6	16.06×10^4	3.55×10^{-5}
	9	16.56×10^4	5.43×10^{-5}	4	8.42×10^4	4.75×10^{-5}
10 日	7	15.66×10^4	4.46×10^{-5}	8	16.03×10^4	4.99×10^{-5}
	14	27.61×10^4	5.07×10^{-5}	14	18.13×10^4	7.73×10^{-5}

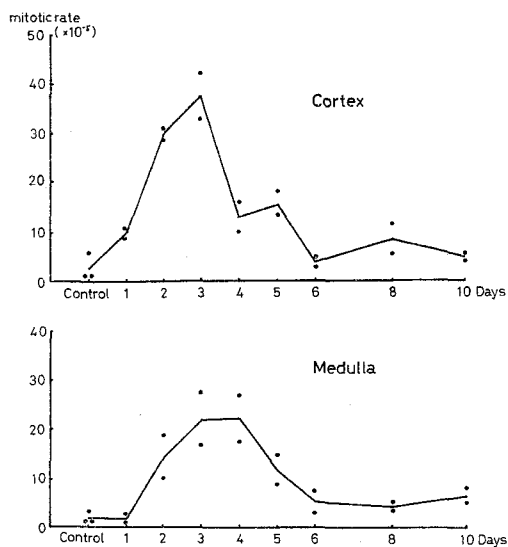


Fig. 6. 葉酸投与後の腎の細胞分裂像の出現頻度

考 察

葉剤の投与による腎肥大の最初の記載は、1947年 Haddow¹⁸⁾が pteridine ring 構造を含む xanthopterin をラットに非経口的に投与したのにはじまる。氏はこの時、腎尿細管における分裂活性が著明に亢進することを報告している。また 1968年 Taylor ら⁶⁾はラットに種々の葉剤を投与し、腎肥大の程度を腎重量、RNA, DNA 量を測定して検討しているが、そのうち xanthopterin, 葉酸, 2: 4: 5-triamino-6-styryl-pyrimidine が腎重量, RNA, DNA 量ともに最も増強させたと報告している。著者はこのなかの葉酸を選んで使用した。葉酸は緑藻のなかの一成分であり、これは乳酸菌の発育に不可欠な因子の1つで、また肝臓のなかの抗貧血性有効成分の1つである。その構造は pteridine, paraaminobenzoic acid および glutamic acid 各1分子よりなる pteroylglutamic acid である¹⁹⁾。最近では種々の葉酸補酵素が発見され、その生化学的な役割が詳細に解明されている^{20, 21, 22)}。葉酸の生体内での生化学的、酵素学的レベルのはたらきのうち最も重要なものは、核酸合成の比較的初めの段階におけるものであり、体内で tetrahydrofolic acid となり、methyl, methenyl, formimino 基などについて、いわゆる one carbon transfer に関与する。また葉酸としての型の原型である pteridine を補酵素とする反応は最近知られ、やはり tetrahydropteridine として hydroxylase の補酵素となる。

著者はこの葉酸をラットの腹腔内に投与し、投与後

における腎重量、DNA 量および細胞分裂像の出現頻度を観察した。

腎重量は葉酸投与後6時間目にすでに増加し、12時間目にピークを示し、その後漸減して5日目にはほぼ正常値になった。ラットに葉酸を非経口的に投与するとその結晶による尿細管腔の閉塞が起り、乏尿をきたし、BUN が上昇する^{23, 24, 25)}。腎重量が早期に増加するのは、この急性腎尿細管障害による水分の蓄積のためと思われる。

また腎細胞の DNA 量が葉酸投与後1日目ですでに増加し、2日目にピークを示し、尿細管上皮細胞における細胞分裂像の出現頻度は葉酸投与後2～4日目に著明な増加を示した。すなわち葉酸を非経口的に投与すると、ラット腎の尿細管上皮細胞における分裂活性が高まることが示された。この原因については、葉酸の結晶が尿細管腔を閉塞することによる影響および葉酸の補酵素的なはたらきと考えられる。

実験的に尿管結紮をおこなって水腎症を起こした腎では細胞分裂像が増加することが報告されている²⁶⁾。

より最近の tritiated thymidine を用いた autoradiographic study では、閉塞腎における DNA 合成が高まっている腎皮質細胞の数が、片腎摘除後の場合より数倍も多いことが示されている²⁷⁾。したがって実験的水腎症および葉酸投与後において、ともに腎における水分の増加が尿細管上皮細胞の分裂反応を誘発するものと思われるが、これらの反応の機構は、はっきりしない。Benitez and Shaka²⁷⁾は尿管結紮後組織学的に尿細管上皮細胞の壊死は認められず、DNA 合成を刺激するような因子は発見されなかったと報告し、単純に尿細管が閉塞された尿で膨張することが刺激となるのではないかと推察している。また Byrnes ら¹⁷⁾は葉酸をじゅうぶん濃縮させて腎に排泄させると正常にはたらく nephron の数が減少し、いくつかの nephron はひどく破壊され、上皮細胞の変性および壊死がみられたと報告し、そのために部分的な機能の減少が起り核酸合成の経路を賦活させるのではないかと推察している。しかし著者の観察では少なくとも 250mg/kg body weight の投与では、尿細管上皮細胞の変性および壊死はほとんど認められなかった。

また腎肥大を増加させる重要な因子として尿細管における再吸収負荷があることは以前より推察されている²⁸⁾。もし葉酸投与後 GFR が増加し、Na イオンのような能動的に再吸収される物質が尿細管中に異常に増加するとすれば、その結果として再吸収の活動が DNA 合成を活発化させることも考えられる。しかし

Ayer ら²⁹⁾ は葉酸投与後、腎における血流の変化はみられなかったと報告し、Helmchen ら³⁰⁾ は circulating renin activity も上昇しなかったと報告している。すなわち葉酸投与後では GFR の変化はなく、血管系の因子は DNA 合成に何らの役割をも演じていないものと思われる。

次に葉酸の補酵素的なはたらきについて考察する。尿細管上皮細胞が葉酸の貯蔵に比較的大きな能力をもっていることは以前より知られている³¹⁾。これは尿細管上皮細胞が folate reductase complex の酵素と結合し、ある程度の期間、そのままの形でとどまるためと思われる^{32,33)}。Byrnes ら¹⁷⁾ は腎細胞における deoxythymidine kinase および DNA polymerase の量を測定した結果、片腎摘除後の場合にはそれぞれ対照値の 2.5 倍であったのに対し、葉酸投与後ではそれぞれ投与後 30 分目に対照値の 13 倍、36 時間目に 6 倍となり、deoxythymidine kinase および DNA polymerase の量は片腎摘除後の場合に比較して著明に増加したと報告している。また Schmidt ら²⁴⁾ は ultramicrochemical method により folic acid 投与後の nephron において NaKATPase の喪失が認められたと報告し、これは尿細管内圧の増加による著明な尿細管の拡張のためと推測している。氏はまた腎を homogenate したものに葉酸を種々の濃度で添加すると NaKATPase は濃度が低いときは活性化し、濃度が高くなると阻害されることを報告し、葉酸が酵素に直接に作用している可能性を示唆した。しかし、まだ葉酸がいかなる経路でどのように DNA 合成に関与しているかは不明であり、今後の研究が待たれる。現時点では、著者の実験成績のように葉酸の結晶が尿細管を閉塞することによる影響、および葉酸の補酵素的なはたらきがともに作用して尿細管上皮細胞の分裂活動が活発になるものと考えられる。

結 語

ラットの腹腔内に葉酸を投与して発生する腎肥大について、投与後の腎重量、光顕像、細胞内 DNA 量ならびに細胞分裂率について検討を加えた。その成績はつぎのとおりである。

1) 腎重量体重比は葉酸投与後急速に増加する。6 時間後で 25%、12 時間後は 80% の増加を認め、以後漸減して 4 日目には 16% となる。

2) 腎の剖面における肉眼的観察では、投与後 2 時間で outer medullary zone に沿って黄色の着色帯がみられ、6～12 時間で最高に達する。

組織学的には、投与後 30 分で遠位尿細管の所どころ

に黄褐色の結晶が腔内に沈着し、8～10 時間後に著明となる。これにともなう近位および遠位尿細管の拡張がみられるが、尿細管上皮の退行性病変は認められなかった。

3) 葉酸投与後 2 日目に腎細胞核における Feulgen-DNA 量が最高となった。

4) 細胞分裂像の出現頻度は葉酸投与後 2～4 日に最高に達した。またこれは DNA 量の変化と時期を一致して変動した。

以上より、葉酸の投与によって明らかに腎の一過性肥大が認められ、その原因については、葉酸の結晶が尿細管を閉塞するためのみならず、葉酸じたいの作用による尿細管上皮細胞の分裂活動の活発化が関与しているものと考えられる。

稿を終えるにあたり、ご指導ご校閲を頂いた恩師酒徳治三郎教授に深謝するとともに、直接ご指導ご協力を賜った本学第一解剖学栗屋和彦教授および加藤征治講師に感謝いたします。

なお本論文の要旨は第 17 回日本腎臓学会総会および第 63 回日本泌尿器科学総会で発表した。

文 献

- 1) 小金丸恒夫：代償性肥大腎における腎内血管の形態学的検討。泌尿紀要，**18**：871，1972。
- 2) 大北純三：代償性腎肥大における DNA 合成および mitotic activity について。泌尿紀要，**19**：129，1973。
- 3) Threlfall, G., et al.: The effect of folic acid on growth and deoxyribonucleic acid synthesis in the rat kidney. Lab. Invest., **15**: 1477, 1966。
- 4) Threlfall, G., et al.: Studies of the changes in growth and DNA synthesis in the rat kidney during experimentally induced renal hypertrophy. Amer. J. Path., **50**: 1, 1967。
- 5) Schmidt, U., et al.: Acute renal failure after folate: NaKATPase in isolated rat renal tubule. Europ. J. Clin. Invest., **3**: 169, 1973。
- 6) Taylor, D. M., et al.: Chemically-induced renal hypertrophy in the rat. Biochem. Pharmacol., **17**: 449, 1965。
- 7) Flanigan, W. J., & Oken, D. E.: Renal micropuncture study of the development of anuria in the rat with mercury-induced acute renal failure. J. Clin. Invest., **44**: 449, 1965。
- 8) Flamenbaum, W., et al.: Micropuncture study of renal tubular factors in low dose mercury

- poisoning. *Nephron*, **8**: 221, 1971.
- 9) Oken, D. E., et al.: Glycerol-induced hemoglobinuric acute renal failure in the rat. I. Micropuncture study of the development of oliguria. *J. Clin. Invest.*, **45**: 724, 1966.
 - 10) Ruiz-Guinazu, A., et al.: Methemoglobin-induced acute renal failure in the rat. In vivo observation, histology and micropuncture measurements of intratubular and postglomerular vascular pressures. *Nephron*, **4**: 257, 1967.
 - 11) Thiel, G., et al.: Glycerol induced hemoglobinuric acute renal failure in the rat. II. The experimental model, predisposing factors, and pathophysiologic features. *Nephron*, **4**: 276, 1967. cited by 5).
 - 12) Arrizurieta, E. E., et al.: Concentrating mechanism and histology during the course of unilateral acute renal failure in the dog. *Nephron*, **5**: 376, 1968.
 - 13) 友永 進・ほか：Feulgen 加水分解法の検討. 山口医学, **19**: 19, 1970.
 - 14) Naora, H.: Microspectrophotometry of cell nucleus stained by Feulgen reaction. *Exptl. Cell Res.*, **8**: 259, 1955.
 - 15) Schmidt, G., & Thannhauser, S. J.: A method for determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid and phosphoproteins in animal tissue. *J. Biol. Chem.*, **161**: 83, 1945.
 - 16) Schneider, W. C.: Phosphorus compounds in animal tissues. 1. Extraction and estimation of desoxypentose nucleic acid of pentose nucleic acid. *J. Biol. Chem.*, **161**: 293, 1945.
 - 17) Byrnes, K. A., et al.: Response of the rat kidney to folic acid administration. I. Biochemical studies. *Lab. Invest.*, **26**: 184, 1972.
 - 18) Haddow, A.: *Brit. Med. Bull.*, **4**: 331. 1947. cited by Threlfall, G.: Compensatory Renal Hypertrophy. edit. by Nowinski, W. W., and Goss, R. J., p. 158, Academic Press Co., New York and London, 1969.
 - 19) 岩井和夫・ほか：（討論）葉酸. 血液と脈管, **2**: 63, 1970.
 - 20) 内野治人：葉酸の臨床とその使い方. *FARUMASHIA*, **6**: 285, 1970.
 - 21) 外林秀紀：葉酸補酵素に関する諸問題. 臨床血液, **12**: 207, 1971.
 - 22) Friedkin, M.: Enzymatic aspect of folic acid. *Ann. Rev. Biochem.*, **32**: 185, 1963.
 - 23) Brade, W., et al.: Schädigung und Regeneration renaler Tubuluszellen nach Folsäuregabe. *Nauyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. exp. Path.*, **262**: 228, 1969.
 - 24) Schmidt, U., et al.: Behavior of sodium-potassium-activated adenosine triphosphatase in rat kidney tissue by folic acid. *Experientia (Basel)*, **25**: 1288, 1969.
 - 25) Brade, W., & Propping, P.: Akutes Nierenversagen nach Pteridinapplikation. *Klin. Wschr.*, **48**: 1209, 1970.
 - 26) Goss, R. J., & Pankin, M.: Physiological factors affecting compensatory renal hyperplasia in the rat. *J. Exp. Zool.*, **145**: 209, 1960.
 - 27) Benitez, L., & Shaka, J. A.: Cell proliferation in experimental hydronephrosis and compensatory renal hyperplasia. *Amer. J. Path.*, **44**: 961, 1964.
 - 28) Mason, R. C., & Ewald, B. H.: Studies on compensatory renal hypertrophy. I. Effect of unilateral ureteral ligation and transaction. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **115**: 1964, cited by 4).
 - 29) Ayer, G., et al.: Intrarenal hemodynamics in two different models of acute renal failure in the rat. (Abstract) V. *Int. Congr. Nephrol. Mexico*. 1972. cited by 5).
 - 30) Helmchen, U., et al.: Plasma renin activity in folic acid induced acute renal failure. *Klin. Wschr.*, **50**: 797, 1972.
 - 31) Goreskiy, C. A., et al.: The renal excretion of folic acid. *J. Clin. Invest.*, **42**: 1841, 1963.
 - 32) Johns, D. G., & Plenderleith, I. H.: Folic acid displacement in man. *Biochem. Pharmacol.*, **12**: 1071, 1963.
 - 33) Johns, D. G., & Bertino, J. R.: Folates and megaloblastic anemia. A review. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **6**: 372, 1965. cited by 4).

(1976年7月19日受付)